

SURFACE GROWTH OF *GEOTRICHUM CANDIDUM*: EFFECT OF THE ENVIRONMENTAL FACTORS ON ITS DYNAMICS

Anna Hudecová, Eubomír Valík, Denisa Liptáková

ABSTRACT

The growth dynamics of *Geotrichum candidum* was studied on the surface of the skim milk agar with respect to the temperature, pH and water activity/NaCl content. At pH ranging from 5.0 to 7.0, the fungus growth rates were similar, whereas the temperature and water activity represented by salt addition in concentration of 3 % influenced the growth significantly. The effect of incubation temperature on the surface growth rate was modelled with G- T_w model. Designed model proved to be good predictor of fungus growth at used environmental conditions. As the filamentous fungus under study is commonly present on the surface of various cheeses, the quantitative data found in this work can provide useful information closely related to real fungus growth, e.g. calculation of time required for *G. candidum* to reach visible 3 mm colony. The predictions showed that, for example at 0 % NaCl content, such colonies were grown for 52.2, 30.7, 18.4, 14.4, 13.9 h at temperatures of 10, 14, 19, 23, 27 °C, respectively.

Keywords: *Geotrichum candidum*, temperature, pH, water activity, G-model

ÚVOD

Geotrichum candidum je vláknitá huba v prostredí rozšírená ubikvitne. Izolovať ju možno z rôznych habitatov ako sú voda, pôda, vzduch, rastliny, ovocie, človek a iné cicavce. Často sa vyskytuje v mlieku a jeho výrobkoch, zvlášť čerstvých, na základe čoho sa považuje za typickú mliečnu hubu (Görner, Valík, 2004; Wouters et al., 2002). Jej význam v mliečnom prostredí však možno hodnotiť ako negatívny aj ako pozitívny. Na jednej strane je vláknitá huba bežným kontaminantom syrov (Ledenbach, Marshall, 2009). Znehodnocuje fermentované mlieka, maslo a smotanu (Varnam, Sutherland, 1994). Na druhej strane sa kultúrne kmene *G. candidum* využívajú zámerne pri zrení špecifických druhov syrov (Pottier et al., 2008).

Schopnosť *G. candidum* rásť v mliečnom prostredí je ovplyvnená spôsobom jej rozmnožovania a adaptáciou na niektoré jeho podmienky. Rozmnožuje sa vegetatívne produkciou artrokonídií (Kocková-Kratochvilová, 1990) a je pomerne odolná voči niektorým nepriaznivým podmienkam, ako sú napríklad nízka teplota, pH a nízky obsah kyslíka. Nevyznačuje sa zvýšenou toleranciou ku zníženým hodnotám a_w . *G. candidum* je schopná rásť pri mikroaerofilných podmienkach. Aj keď je interiér syra v podstate anaeróbny systém, *G. candidum* je schopná rásť nielen na jeho povrchu, ale i vo vnútri v stonásobne nižšej koncentrácii (Boutrou, Guéguen, 2005; Haasum, Nielsen, 1998).

Vláknitá huba je bežnou súčasťou mikroflóry syrov vyrábaných zo surového mlieka. Napriek tomu kvantitatívne údaje o jej raste v tejto oblasti sú nedostatočné. Dôležitým faktorom v tomto smere je rýchlosť, akou sa dokáže pomnožiť na povrchu syra, kde po určitom čase vytvára biely povlak. Jej premnožením nedochádza iba k zmene vzhľadu, ale svojím metabolizmom rozkladá mliečny tuk a proteíny (Marcellino et al., 2001). V mliekarenskej praxi je dôležité udržať rast *G. candidum* na zelanej úrovni a tým dosiahnuť kontrolou nad priebehom príslušných organoleptických zmien.

Cieľom predloženej práce bolo sledovať dynamiku povrchového rastu vláknitej huby pri meniacich sa podmienkach prostredia ako sú teplota, pH a aktivita vody.

Následne popísať vplyv sledovaných faktorov prostredia na rastovú rýchlosť študovanej vláknitej huby pomocou sekundárneho matematického vyhodnotenia.

MATERIÁL A METODIKA

Mikroorganizmus

Vláknitú hubu *G. candidum* sme izolovali z ovčieho hrudkového syra vyrobeného zo surového mlieka. Jeho identifikáciu na druhej úrovni nám potvrdila Ing. E. Piecková, PhD., MPH. (Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava, Slovenská republika). Izolát sme uchovávali na šikmom agare s obsahom odstredeného sušeného mlieka (SMA, Merck, Darmstadt, Nemecko) pri 5 ± 1 °C.

Médiá a zostavenie experimentov

Dynamiku rastu *G. candidum* sme vyšetrovali na povrchu SMA agaru. Na dosiahnutie rôznej aktivity vody sme do živného média pridávali chlorid sodný v koncentráciách 0, 1, 3 a 5 % (w/v). Aktuálna hodnota aktivity vody sa merala pomocou prístroja a_w sprint TH 500 (Nowasina, Lachen, Švajčiarsko). Hodnotu pH agaru sme upravovali roztokom kyseliny mliečnej. Po sterilizácii, rozliatí na Petriho misky s vnútorným priemerom 11 cm a po stuhnutí sa povrch agaru inokuloval bunkami *G. candidum*. Na inokuláciu sme použili 48 až 72 h kultúru vyrastenú na definovanom povrchu SMA agaru v skúmavkách. Bunky sme naniesli do stredu každej Petriho misky pomocou mikrobiologického očka. Priemer kolónií sme merali vo vhodne stanovených časových intervaloch pomocou posuvného meradla (150x0,02 mm, Jiangsu S. Ltd) v dvoch na seba kolmých smeroch. Výsledný priemer kolónie *G. candidum* sme vypočítali ako aritmetický priemer. Jednotlivé série experimentov sme uskutočnili v troch paralelných pokusoch pri teplotách pohybujúcich sa v intervale od 8 do 37 °C. Pri 0 % prídavku soli a teplotách od 12 do 25 °C sa pH agaru pohybovalo v rozpätí hodnôt od 5,0 do 7,0 s krokom 0,5. Pri ostatných experimentoch bolo pH média vždy upravené na hodnoty 5,5 a 7,0.

Matematická analýza

Priemer kolónií rastúcich na povrchu agaru sme v závislosti od času vyhodnotili pomocou primárneho modelu tak, ako to navrhli vo svojej práci **Baranyi et al. (1993)**. Rastovú rýchlosť kolónie *G. candidum* vypočítanú z rastových čiar a vyjadrenú ako nárast kolónie za časovú jednotku (g) sme podrobili sekundárnemu modelovaniu v závislosti od inkubačnej teploty. Na tento účel nám poslušil G-model (**Gibson et al. 1994**), pričom aktivitu vody sme nahradili transformáciou teploty podľa **Medved'ovej et al. (2009)**:

$$T_w = \sqrt{T_{\max} - T} \quad (1)$$

kde T_{\max} je maximálna teplota pre rast, T je konkrétna teplota a T_w je transformácia teploty. Pre popis experimentálnych údajov sa potom použila kvadratická funkcia:

$$\ln g = C_0 + C_1 T_w + C_2 T_w^2 \quad (2)$$

kde g je rastová rýchlosť kolónie ($\text{mm}\cdot\text{h}^{-1}$) a C_0 až C_2 sú koeficienty rovnice. Optimálna teplota T_w , pri ktorej rastová rýchlosť dosiahne maximálnu hodnotu sa vypočítala podľa vzorca:

$$T_w(\text{opt}) = -\frac{C_1}{2C_2} \quad (3)$$

Validácia modelu

Sekundárny model (rov. 2) sme podrobili validácii podľa **Baranyiho et al. (1999)**. Faktor presnosti, faktor spoľahlivosti a percento diskrepancie sme vypočítali použitím nasledovných rovníc:

$$A_f = \exp\left(\sqrt{\frac{\sum_{k=1}^n (\ln f(g^k) - \ln g^k)^2}{n}}\right) \quad (4)$$

$$B_f = \exp\left(\frac{\sum_{k=1}^n (\ln f(g^k) - \ln g^k)}{n}\right) \quad (5)$$

$$D_f = (A_f - 1) \cdot 100\% \quad (6)$$

kde g je rastová rýchlosť získaná z primárneho modelu, $f(g^k)$ = rastová rýchlosť vypočítaná z modelu f , ktorý opisuje experimentálne hodnoty, n = počet meraní, A_f = faktor presnosti, B_f = faktor spoľahlivosti a D_f = diskrepancia v percentách.

Smerodajnú odchýlku (angl. mean square error – MSE) sme vypočítali nasledovne:

$$MSE = \frac{RSS}{n} = \frac{\sum (g_{\text{experimentálna}} - g_{\text{vypočítaná}})^2}{n} \quad (7)$$

kde n je počet údajových bodov a RSS (angl. residual sum of squares) je suma štvorcov odchýlok.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Rast *G. candidum* sme sledovali pri viacerých teplotách v rozpätí od 8 do 37 °C. Tento interval bol zvolený na základe už zistených poznatkov z literatúry tak, aby nám v sekundárnej fáze modelovania pokryl oblasť rastu vláknitej huby. Pri každej kultivačnej teplote sa vykonali dve sady meraní pri dvoch hodnotách pH agaru a to 5,5 a 7,0. Nakoniec sa pri konkrétnej hodnote pH sledoval rast vláknitej huby bez alebo s prídavkom soli v koncentráciách 1, 3 a 5 % (w/v), ktorý znižoval vodnú aktivitu média. Získané rastové čiary vláknitej huby mali typický sigmoidálny tvar s lag-fázou, následnou fázou exponenciálneho rastu, po ktorej nasledovala fáza stacionárna. V mnohých experimentoch však lag-fáza chýbala. Tento jav mohla vyvolať inokulácia veľkého množstva buniek a fragmentov mycélia na povrch živného média identického zloženia. *G. candidum* bola schopná rásť za všetkých zvolených podmienok prostredia, ale rôznou rýchlosťou.

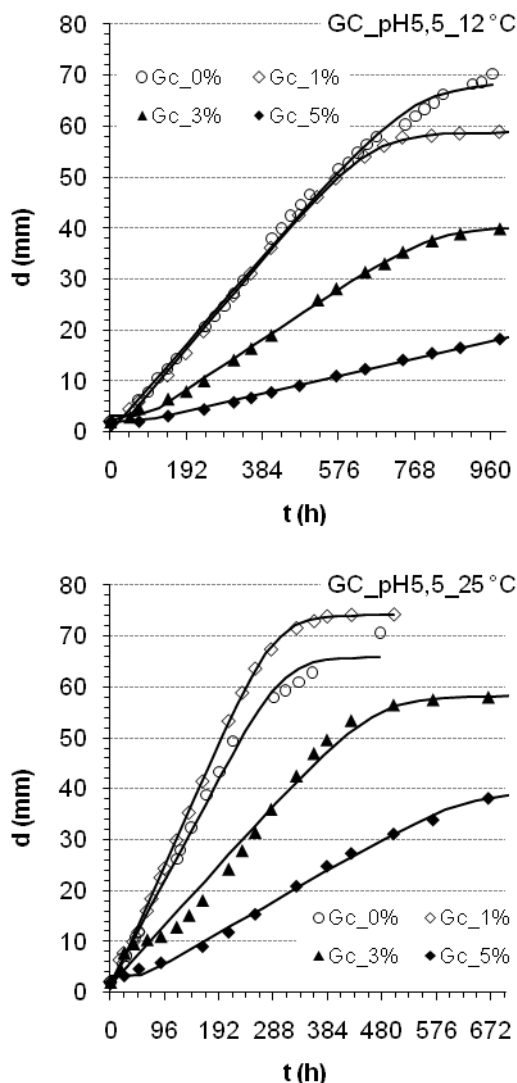
Vplyv obsahu využiteľnej vody v prostredí na rast vláknitej huby je názorne uvedený na obr. 1. Pri konštantnom pH (5,5) a teplote významne ovplyvnil rýchlosť rastu *G. candidum* až prídavok soli v koncentrácii 3 %. Napríklad pri teplote 12 °C rástla vláknitá huba v prostredí bez prídavku soli ($a_v = 0,993$) rýchlosťou 0,089 $\text{mm}\cdot\text{h}^{-1}$. 1%-tný prídavok soli ($a_v = 0,985$) významne neovplyvnil dynamiku jej rastu ($g_{1\%} = 0,091 \text{ mm}\cdot\text{h}^{-1}$). Tá sa v porovnaní s 0 % obsahom soli zvýšila len o nepatrné 2 %. Iná situácia nastala pri 3 % ($a_v = 0,975$). Vlákňitá huba po 93 h lag-fáze začala rásť rýchlosťou 0,052 $\text{mm}\cdot\text{h}^{-1}$, čo v prepočte predstavuje 42 % zníženie v porovnaní s 0 % soli. Zvýšenie koncentrácie soli na 5 % ($a_v = 0,964$) spomalilo rastovú rýchlosť *G. candidum* až na hodnotu 0,018 $\text{mm}\cdot\text{h}^{-1}$. Vlákňitá huba rástla až 5 násobne nižšou rýchlosťou než pri 0 % obsahu soli a takmer trojnásobne pomalšie ako v prípade 3 %. Navýšenie soli na 5 % sa odrazilo nielen v spomalení rastovej rýchlosti *G. candidum*, ale spôsobilo aj zmenu morfológie kolónie (obr.2). Tá nevytvárala súvisle zaoblený okraj, ale jej rast bol nepravidelný s výbežkami mycélia do okolitého agaru. Konečný priemer kolónie bol iba 31 mm a stacionárna fáza nastala až po 2 mesiacoch a 23 dňoch kultivácie. V prípade 1 % prídavku soli exponenciálny rast trval jeden mesiac a kolónia dosiahla priemer takmer 60 mm.

Zvýšením teploty na 25 °C sa rast vláknitej huby významne urýchlil, avšak vzhľadom na obsah soli si zachoval rovnaký trend. Rýchlosť rastu vláknitej huby pri 1 % koncentrácii soli v prostredí dosiahla hodnotu 0,251 $\text{mm}\cdot\text{h}^{-1}$. Tá bola o 16 % vyššia v porovnaní s rastom bez soli ($g_{0\%} = 0,210 \text{ mm}\cdot\text{h}^{-1}$) ale až 2 násobne vyššia ako pri 3 % ($a_v = 0,973$; $g_{3\%} = 0,122 \text{ mm}\cdot\text{h}^{-1}$). 5 % soli ($a_v = 0,960$) znížilo rýchlosť rastu až 4 násobne ($g_{1\%} = 0,064 \text{ mm}\cdot\text{h}^{-1}$) v porovnaní s 1 %. Kolónia *G. candidum* pri 1 % soli narástla na 72 mm za celé 2 týždne. Pri 5 % dosiahla maximálny priemer 39 mm približne za jeden mesiac. Dynamiku rastu vláknitej huby izolovanej z rozkladajúceho sa citrusového ovocia sledovali aj **Plaza et al. (2004)**. Pri 25 °C dosiahla rýchlosť rastu tohto izolátu hodnotu 0,167 $\text{mm}\cdot\text{h}^{-1}$ ($a_v = 0,995$). Pri znížení aktivity vody na 0,950 rástla vláknitá huba rýchlosťou

nižšou ako $0,042 \text{ mm}\cdot\text{h}^{-1}$. V prostredí s vodnou aktivitou upravenou na hodnotu 0,90 sa jej rast nezaznamenal.

Sekundárna matematická analýza

Pri sekundárnom modelovaní výsledkov sme vplyv teploty na rastovú rýchlosť kolónie *G. candidum* vyjadrili pomocou

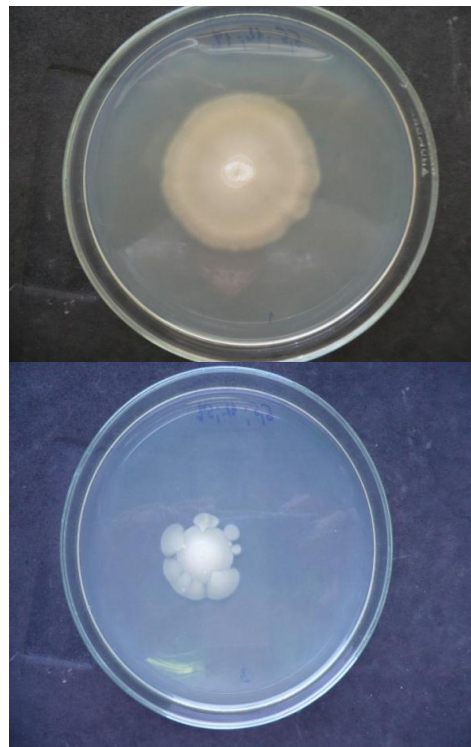


Obrázok 1: Dynamika rastu *G. candidum* pri pH 5,5 a teplotách 12 °C (hore) a 25 °C (dole) počas jej kultivácie na povrchu agaru s odstredeným mliekom a s prídavkom soli 0, 1, 3 a 5 %

G-modelu s transformáciou podľa teploty ($G-T_w$ model, Medved'ová et al., 2009). Meniaca sa hodnota pH agaru (5,5 a 7,0) neovplyvnila významne dynamiku rastu vláknitej huby. Nevýznamný vplyv pH (od 5,0 do 7,0 s krokom 0,5) na rastovú rýchlosť kolónie *G. candidum* sme zaznamenali už v predošlej práci (Hudecová et al., 2008). *G. candidum* dokáže rásť v širokom intervale pH hodnôt (od 3 do 11). Optimálnym pre jej rast sa uvádza rozpätie od 5,5 do 6,0 ale aj od 6,0 do 7,0. Vzhľadom na uvedené skutočnosti bolo možné v súlade s Boutrouovou a Guéguenovou (2005) ako aj Tempelovou a Nielsenovou (2000) predpokladať, že pH hodnota v intervale od 4,4 do 6,7, ktorá sa uplatňuje pri výrobe

syrov, nemá výrazný vplyv na rast kmeňov *G. candidum* izolovaných z tohto druhu potraviny.

Na základe uvedených skutočností sme pre účely sekundárneho modelovania použili všetky namerané rastové rýchlosti bez ohľadu na hodnotu pH. Podľa experimentálnych údajov sme ako maximálnu pre rast vyšetrovaného izolátu vláknitej huby určili teplotu 38 °C,



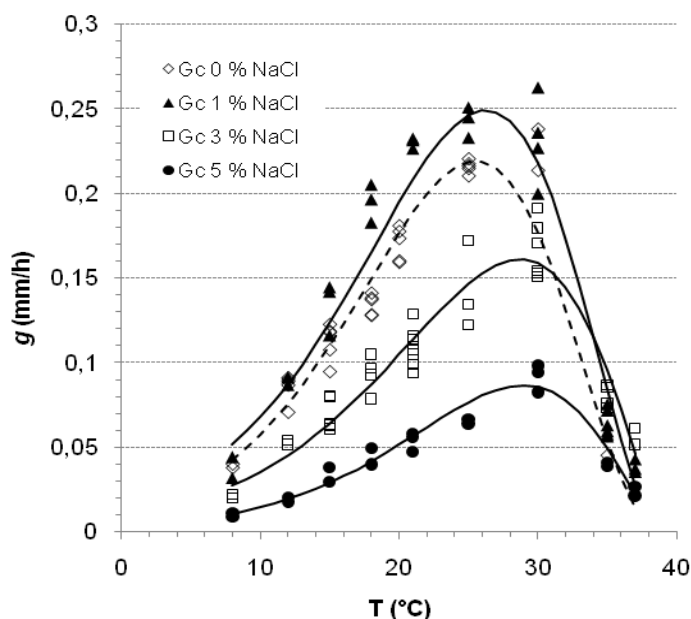
Obrázok 2: Makroskopický vzhľad kolónie *G. candidum* na agare s odstredeným sušeným mliekom pri pH 5,5, teplote 12 °C a pri koncentrácii soli 1 % (hore) a 5 % (dole)

ktorú sme použili vo vzťahu (1). Sekundárny model sa použil na vyjadrenie závislosti rastovej rýchlosti kolónie *G. candidum* od teploty pre koncentrácie soli 0, 1, 3 a 5 % (tab. 1) a jeho grafické prevedenie pri týchto podmienkach je zobrazené na obr. 3. Jednou z výhod modelu je možnosť výpočtu optimálnej teploty a optimálnej rýchlosti rastu modelovaného mikroorganizmu. Porovnaním optimálnych teplôt pri rôznom obsahu soli v médiu sme zistili, že so stúpajúcou koncentráciou soli sa optimálna teplota pre rast *G. candidum* zvyšovala, čo prirodzene súviselo s vyššou potrebou energie mikroorganizmu pri osmoregulačných procesoch reagujúcich na zhoršenie podmienok jedného z faktorov prostredia, v tomto prípade zníženia aktivity vody (Marechal et al. 1999). Optimálna teplota pre rast vláknitej huby sa pohybovala v rozpätí od 25 do 30 °C, teda v intervale uvedenom napríklad aj Fröhlich-Wyderovou (2003).

Rýchlosť rastu vláknitej huby bola významne ovplyvnená prídavkom soli do živného média hlavne v oblasti teplôt od 8 do 30 °C. Pri 1 % soli sa dynamika rastu *G. candidum* v porovnaní s rastom bez soli nepatrne zvýšila. Tento nárast bol v priemere 12 %. Navýšenie koncentrácie soli na 3 % už pozorovateľne spomalilo rastovú rýchlosť sledovanej huby. Tá rástla pomalšie v porovnaní s 1 % soli

Tabuľka 1: Koefficienty $G - T_w$ modelu, vypočítaná optimálna teplota a rastová rýchlosť *G. candidum* pri jednotlivých koncentráciách soli v prostredí

<i>G. candidum</i>		G- T_w model			T_{opt} (°C)	g_{opt} (mm.h ⁻¹)
% NaCl	a_v	Koefficienty				
		C_0	C_1	C_2		
0 %	0,993±0,003	-6,9142	3,0561	-0,4326	25,5	0,219
1 %	0,986±0,003	-5,814	2,5805	-0,3762	26,2	0,249
3 %	0,975±0,003	-4,6231	1,8373	-0,3016	28,7	0,161
5 %	0,963±0,002	-5,5468	2,0601	-0,3424	28,9	0,086



Obrázok 3: Grafické znázornenie rýchlosti rastu kolónie *G. candidum* od teploty a obsahu soli v agare s odstredeným sušeným mliekom. Symboly predstavujú rastové rýchlosti získané z rastových kriviek a funkcia $g = \exp(C_0 + C_1 T_w + C_2 T_w^2)$ je reprezentovaná kontinuálnymi čiarami.

a rozdiel v rýchlostiach sa pohyboval od 48 do 27 %. Zníženie rastovej rýchlosti vláknitej huby pri najvyššej koncentrácii soli v prostredí bolo už výrazné. V porovnaní s 3 % sa rýchlosť znížila v priemere o polovicu a oproti 1 % rast poklesol o 79 až 61%. V oblasti za teplotným optimom vláknitá huba rástla podobne či už bol obsah soli 0, 1 alebo 3 %. Až pri 5 % nastalo výraznejšie zníženie rýchlosti rastu. V oblasti za teplotným optimom pri koncentrácii soli 5 % (a_v 0,963±0,002), boli zistené kumulatívne nepriaznivé

účinky zníženej aktivity vody a vysokej teploty. *G. candidum* je na obsah soli v prostredí citlivá, ale táto vlastnosť bola kmeňovo závislá. Rastová odozva kmeňov na soľ sa líšila hlavne v intervale koncentrácií od 1 do 2,5 %. V syre jej rast bol limitovaný pri koncentráciách nad 1 %. Nakoľko sa povrch syra pred zretím soli väčšina kmeňov tolerovala len 1 až 2 % soli (Boutrou, Guéguen, 2005; Lecocq, Gueguen, 1994). Podľa uvedených autorov bola tolerancia kmeňov *G. candidum* na soľ do určitej miery ovplyvnená aj druhom syra. Napríklad všetky kmene *G. candidum* izolované zo španielskeho syra Armada rástli dobre aj pri 5 % soli v prostredí. Tieto kmene vykazovali výnimočné správanie, lebo bežne býva rast vláknitej huby pri 5 až 6 % soli úplne inhibovaný

(Tornadijo et al. 1998). Naproti tomu kmene zo syra s modrou plesňou vo vnútri neboli schopné rásť už pri 4 % soli, $a_v = 0,970$ (Tempel, Nielsen, 2000).

Čas potrebný pre vytvorenie viditeľnej kolónie

Z praktického hľadiska bolo dôležité z našich výsledkov určiť, napríklad, čas potrebný pre vytvorenie viditeľnej kolónie. Za takúto sa považuje kolónia s priemerom 3 mm (Valík, Piecková, 2001). Príslušné výsledky sú uvedené v tab. 2. Ak by sme naše predpovede aplikovali na zretie ovčieho hrudkového syra, ktoré prebieha pri teplotách 14 až 16 °C (STN 571138, 1995), tak pri teplote 15 °C vytvorí *G. candidum* viditeľnú kolóniu po 1 dni. Ak by povrch hrudkového syra nebol ošetrovaný, utieraný slaným roztokom mohol by sa jeho rast vymknúť spod kontroly a spôsobiť nežiaduce organoleptické zmeny nielen v syre, ale aj v bryndzi, pre ktorú je surovinou.

Tabuľka 2: Čas (h) potrebný na dosiahnutie 3 mm kolónie *G. candidum* v závislosti od teploty a koncentrácie soli vypočítaný pomocou $G-T_w$ modelu.

%	Teplota (°C)					
	10	14	19	23	27	31
0	52,2	30,7	18,4	14,4	13,9	19,2
1	44,3	27,1	16,6	13,0	12,1	15,2
3	85,2	52,4	31,3	22,9	19,0	19,5
5	206,8	118,0	64,8	44,8	35,8	36,3

Validácia sekundárneho modelu

Schopnosť sekundárneho modelu predpovedať rast vláknitej huby za použitých podmienok sme vyhodnotili pomocou výpočtu faktorov validácie (tab. 3) tak, ako to navrhli vo svojej práci **Baranyi et al. (1999)**. Diskrepancie medzi predikovanými a experimentálnymi rastovými rýchlosťami dosiahli hodnoty od 12 % do 25 %. Tieto výsledky sú porovnateľné s inými prácami zaoberajúcimi sa sekundárnym modelovaním povrchového rastu vláknitých húb. Napríklad počas modelovania kombinovaného vplyvu teploty a aktivity vody na rast *Fusarium verticillioides* a *Fusarium proliferatum* boli priemerné nezhody pre dva použité modely 11 a 25,4 % (**Samapundo et al., 2005**). Pri štúdiu vplyvu teploty na rast 5 kmeňov *Penicillium expansum* sa vypočítané hodnoty B_f pohybovali od 0,91 do 1,10 a A_f od 1,05 do 1,19 (**Baert et al., 2007**).

Tabuľka 3: Faktory validácie $G-T_w$ modelu pri jednotlivých koncentráciách soli v prostredí

<i>G. candidum</i> % NaCl	Parametre validácie				
	A_f	B_f	D_f (%)	R^2	MSE
0 %	1,125	0,999	12	0,943	0,014
1 %	1,248	1,001	25	0,902	0,049
3 %	1,163	1,001	16	0,911	0,023
5 %	1,148	1,000	15	0,958	0,019

ZÁVER

Predložená štúdia poskytla kvantitatívne údaje o povrchovom raste vláknitej huby *G. candidum* a o jeho ovplyvnení faktormi prostredia, ako sú teplota, pH a vodná aktivita. Izolát z ovčieho hrudkového syra nereagoval na zmenu hodnoty pH v rozpätí od 5,0 do 7,0, ale jeho rast bol významne ovplyvnený zmenou teploty a znížením vodnej aktivity prídavkami soli vyššími ako 3 %. Výsledky práce poukázali na opodstatnenosť utierania povrchu hrudkových syrov utierkou prepieranou v soľnom roztoku, čím sa dosiahne kontrola nad intenzívnym rastom vláknitej huby na povrchu syra počas jeho zretia.

REFERENCES

BAERT, K., VALERO, A., DE MEULENAER, B., SAMAPUNDO, S., AHMED, M. M., BO, L., DEBEVERE, F., DEVLIEGHERE, F., 2007. Modelling the effect of temperature on the growth rate and lag phase of *Penicillium expansum* in apples. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 118, 2007, p. 139-150.

BARANYI, J., PIN, C., ROSS, T., 1999. Validating and comparing predictive models. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 48, 1999, p. 159-166.

BARANYI, J., ROBERTS, T. A., McCLURE, P., 1993. A non-autonomous differential equation to model bacterial growth. In *Food Microbiology*, vol. 10, 1993, p. 43-59.

BOUTROU, R., GUÉGUEN, M., 2005. Interests in *Geotrichum candidum* for cheese technology. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 102, 2005, p. 1-20.

FRÖHLICH-WYDER, M., 2003. Yeasts in dairy products. In BOEKHOUT, T., ROBERT, V. *Yeasts in food*. Hamburg: Woodhead Publishing, 2003, p. 209-237, ISBN 185573706X.

GIBSON, A. M., BARANYI, J., PITT, J. I., EYLES, M. J., ROBERTS, T. A., 1994. Predicting fungal growth: the effect of water activity on *Aspergillus flavus* and related species. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 23, 1994, p. 419-431.

GÖRNER, F., VALÍK, Ľ., 2004. *Aplikovaná mikrobiológia požívatin*. 1. vyd. Bratislava: Malé centrum, 2004. 528 p. ISBN 80-967064-9-7.

HAASUM, I., NIELSEN, P. V., 1998. Ecophysiological characterization of common food-borne fungi in relation to pH and water activity under various atmospheric compositions. In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 84, 1998, p. 451-460.

HUDECOVÁ, A., LIPTÁKOVÁ, D., VALÍK, Ľ., MEDVEĐOVÁ, A., 2008. Vplyv teploty a aktívnej kyslosti na rast *Geotrichum candidum* v mlieku a v mliečnom agare. In *Celostátní přehledky sýrů: Mléko a sýry*, 2008, p. 94-99. ISBN 978-80-7080-695-1.

KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A., 1990. *Taxonómia kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov*. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1990. 673 p. ISBN 80-05-00644-6.

LECOCQ, J., GUEGUEN, M., 1994. Effects of pH and sodium chloride on the interactions between *Geotrichum candidum* and *Brevibacterium linens*. In *Journal of Dairy Science*, vol. 77, 1994, no. 10, p. 2890-2899.

LEDENBACH, L. H., MARSHALL, R. T., 2009. Microbiological spoilage of dairy products. In SPERBER, W. H., DOYLE, M. P. *Compendium of the microbiological spoilage of foods and beverages*. New York: Springer Science+Business Media, LLC, 2009, p. 41-67, ISBN 978-1-4419-0825-4.

MARCELLINO, N., BEUVIER, E., GRAPPIN, R., GUÉGUEN, M., BENSON, D. R., 2001. Diversity of *Geotrichum candidum* strains isolated from traditional cheesemaking fabrications in France. In *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 67, 2001, no. 10, p. 4752-4759.

MARECHAL, P. A., MARNAÑÓN, I. M., POIRIER, I., GERVAIS, P., 1999. The importance of the kinetics of application of physical stresses on the viability of microorganisms: significance for minimal food processing. In *Trends in Food Science & Technology*, vol. 10, 1999, p. 15-20.

MEDVEĐOVÁ, A., VALÍK, Ľ., SIROTNÁ, Z., LIPTÁKOVÁ, D., 2009. Growth characterisation of *Staphylococcus aureus* in milk: a quantitative approach. In *Czech Journal of Food Sciences*, vol. 27, 2009, p. 443-453.

PLAZA, P., USALL, J., TEIXIDÓ, N., VIÑAS, I., 2004. Effect of water activity and temperature on competing abilities of common postharvest citrus fungi. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 90, 2004, p. 75-82.

POTTIER, I., GENTE, S., VERNOUX, J. P., GUÉGUEN, M., 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: *Geotrichum candidum*. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 126, 2008, p. 327-332.

SAMAPUNDO, S., DEVLIEGHIERE, F., DE MEULENAER, B., GEERAERD, A. H., VAN IMPE, J. F., DEBEVERE, J. M., 2005. Predictive modelling of the individual and combined effect of water activity and temperature on the radial growth of *Fusarium verticillioides* and *F. proliferatum* on corn. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 105, 2005, p. 35-52.

STN ISO 571138. 1995. Ovčí hrudkový syr. Bratislava: Slovenský ústav technickej normalizácie, 1995, 8 p.

TEMPEL, T. V. D., NIELSEN, M. S., 2000. Effects of atmospheric conditions, NaCl and pH on growth and interactions between moulds and yeasts related to blue cheese production. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 57, 2000, p. 193-199.

TORNADIJO, M. E., FRESNO, J. M., SARMIENTO, R. M., CARBALLO, J., 1998. Study of the yeasts during the ripening process of Armada cheeses from raw goat's milk. In *Le Lait*, vol. 78, 1998, p. 647-659.

VALÍK, Ľ., PIECKOVÁ, E., 2001. Growth modelling of heat-resistant fungi: the effect of water activity. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 63, 2001, p. 11-17.

VARNAM, A. H., SUTHERLAND, J. P., 1994. *Milk and milk products: Technology, chemistry and microbiology*. London: Chapman and Hall, 1994. 451 p. ISBN 041245730X.

WOUTERS, J. T. M., AYAD, E. H. E., HUGENHOLTZ, J., SMIT, G., 2002. Microbes from raw milk for fermented dairy products. In *International Dairy Journal*, vol. 12, 2002, p. 91-109.

Acknowledgments:

Táto práca bola vypracovaná s podporou grantu MŠ VEGA č. 1/0094/10 a programom na podporu mladých výskumníkov STU č. 6408-PM.

Contact address:

Anna Hudecová, Department of Nutrition and Food Assessment, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic, E-mail: xhudecova@stuba.sk

Lubomír Valík, Department of Nutrition and Food Assessment, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic, E-mail: lubomir.valik@stuba.sk

Denisa Liptáková, Department of Nutrition and Food Assessment, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovak Republic, E-mail: denisa.laukova@stuba.sk